
特集：これからの遺伝診療を考える

小児神経疾患と遺伝子

東 田 好 広

徳島大学医歯薬学研究部小児科学分野

(平成27年11月2日受付)(平成27年11月18日受理)

はじめに

小児科神経外来を受診するきっかけはさまざまであるが、例えば、①運動発達の遅れ(首が座らない、歩けない、四肢の緊張が強いなど)、②知的発達の遅れ(言葉が遅い/出ない、指示を理解できないなど)、③行動異常(落ち着きがない、こだわりが強い、暴力をふるうなど)、④意識障害(失神、痙攣など)といった主訴が考えられる。まずは発症時期や原因となりそうな外傷や既往の確認を行い、次いで血液検査、頭部CT/MRI、脳波検査、筋電図、聴力/視力検査といった器質的異常の精査を行うという流れであるが、各種検査によっても明らかな器質的原因が指摘できないということも少なくない。そのような場合は遺伝学的検査が考慮される。先天異常症は出生時の約5%とされているが、胎生期～出生前後に認められる各種疾患(心疾患、先天奇形、神経筋疾患、血液疾患、皮膚/骨格異常、耳鼻科/眼科的疾患など)の半数が染色体・遺伝子異常を伴う。その他5%が環境因子、残り半数は不明とされているが、そのうちの多くで未発見の遺伝的な異常を伴っていると考えられる。

遺伝に関する検査を行うとき

明らかな器質的異常により症状の説明がつく場合(重度新生児仮死→虚血性低酸素性脳症、てんかん性脳症(West症候群など)、外傷性(出血、脳挫傷、虐待)、

細菌性髄膜炎、感染性脳炎/脳症など)は遺伝子検査の対象にはならないと思われるが、遺伝的な問題が間接的に器質的異常をきたしやすい状況を作り出す可能性があり、注意が必要である。一方、外表奇形(顔貌異常、皮膚、骨格の異常、頭囲拡大など)、内臓奇形(心疾患、腸管の異常、腎奇形など)、機能異常(視力、聴力異常など)、神経筋疾患(精神運動発達遅滞、筋緊張低下など)などが先天的に単独あるいは複数認められる場合には遺伝学的検査を考慮する。

遺伝学的検査

<染色体G-band検査>

遺伝学的検査でまず行う検査としては染色体G-band検査があげられる。ギムザ染色により現れる特徴的なバンドパターンにより染色体を同定するものであるが、施行が簡便であり、保険適用であること、全染色体を網羅できるのでスクリーニングとして有用であることなどから第一選択と考えられる。この検査では染色体の数的異常と構造異常を検出できるが、目視による判断のため、検者の能力に左右されることや、比較的大きな欠失、重複しか検出できない(10Mb程度)という欠点がある。また、培養細胞を用いるので、異常細胞が培養中に欠落して正常とされることがある。

<FISH (fluorescence in situ hybridization) 法>

FISH 法は目標領域に相補的な遺伝子や DNA 断片を蛍光標識後、患者染色体 DNA とハイブリダイゼーションし、蛍光シグナルとして検出するものである。G-band 検査に比べて検出感度ははるかに高く、微小な欠失、重複を検出できる。種々の疾患が保険適用内で検査可能である (表)。また、染色体の由来を判定する目的 (マルチカラー FISH や SKY 法) にも使われている。しかしあらかじめ決まった疾患に特異的な領域の DNA プローブを用いる関係上、ある程度症状から疾患を予測したうえで検査を出すことになり、目的とする疾患が不明の場合には用いることができない。また目的の疾患であっても、数的異常がなければ検知できないことがある (Prader-Willi 症候群におけるゲノム刷り込み現象など)。

表. FISH 法で検出可能な先天性疾患例

疾患名	領域
Wolf-Hirschhorn 症候群	(4p16.3)
Sotos 症候群	(5q35)
Williams 症候群	(7q11.23)
Angelman 症候群	(15q11.2)
Prader-Willi 症候群	(15q11.2)
Miller-Dieker 症候群	(17p13.3)
22q11.2欠失症候群	(22q11.2)
1p36欠失症候群	(1p36)
9q34欠失症候群	(9q34)
22q13.3欠失症候群	(22q13.3)

<マイクロアレイ>

マイクロアレイはあらかじめ塩基配列の明らかな多数の DNA プローブを基板上に配置しておき、これに結合した DNA 鎖を検出するものである。代表的な方法とし

て、正常対照と比較してコピー数異常を調べる比較ゲノムハイブリダイゼーション (CGH; comparative genomic hybridization) がある。全ゲノム領域の精査が可能でスクリーニングに向き、G-band 検査と比較してはるかに検出感度が高いことが特徴である。近年この方法による微細欠失の発見が多数報告されている。問題点は保険適用でないため検査費用が高価であること、コピー数異常を伴わない染色体構造異常は検出できないこと、検出された微細欠失や重複が既知のものでない場合は病的意義についての解釈が難しい場合があること、などである。

<その他>

次世代シーケンサーによる解析などの方法も普及しつつあるが、未だ研究室レベルである。一部の疾患においては各学会ホームページなどに検体の受け入れ情報が掲載されている場合があるため、ある程度疾患の目星がついている場合には依頼できる可能性がある。しかし研究期間が終了すると解析依頼できなくなることがあり、注意が必要である。

最 後 に

近年、解析技術の目覚ましい進歩によりさまざまな遺伝子異常症が判明しているが、それに比例して臨床医が全ての疾患を把握することが非常に困難になっており、専門家と連携して診療を行っていく必要性が増加している。一方臨床現場で選択できる検査法はまだまだ限られており、今後スクリーニングに適したマイクロアレイの保険適応などを期待したい。

文 献

- 1) 藤田京志, 松本直通: 次世代シーケンサー入門. 産科と婦人科, 6(33): 715-20, 2014
- 2) 磯部泰司, 三浦偉久男: 染色体・遺伝子検査. 日本

- 臨床, 72(3) : 418-29, 2014
- 3) 山本俊至 : 染色体異常の診断の進歩・マイクロアレイ染色体検査. 小児科臨床, 66 : 1215-22, 2013
- 4) 齋藤伸治 : 新技術 DNA アレイ解析. 現代医学, 60(2) : 347-52, 2012
- 5) 山本俊至, 下島圭子 : アレイ CGH 法 : 新技術によるてんかんの遺伝子研究. Epilepsy, 5(1) : 47-52, 2011
- 6) 大橋博文 : 染色体異常症の基礎と病態. 小児科診療, 1(25) : 25-30, 2009

Genetic examination of pediatric neurological disorders

Yoshihiro Toda

Department of Pediatrics, School of Medicine, University of Tokushima, Tokushima, Japan

SUMMARY

For children with neurological disorders, we are often unable to identify any abnormalities during the examination based on the blood test, CT/MRI, EEG, EMG, etc. In such cases, it becomes necessary to check for congenital genetic anomalies, especially when two or more symptoms involving external malformation, organ malformation, and defect in eyesight or hearing ability are found. Under clinical settings, the G-banding stain is the first such test to be conducted. Although the cost is covered by insurance and the test can be used to examine all of the chromosomes, it is only capable of detecting comparatively large deletions and duplications. The FISH method, however, has far higher sensitivity compared to the G-banding in terms of identifying deletions and duplications. Unfortunately, since it utilizes specific DNA probes, it cannot be used without first specifying a particular target disease. Moreover, even if the correct target disease is chosen, this test consistently produces numerical abnormalities. Therefore, we may find it best to use the microarray-based comparative genomic hybridization (array CGH). This test makes it possible to analyze an entire genome domain, and the sensitivity is much higher than that of G-banding. In recent years, a large number of microdeletions have been found by this method. However, this method is expensive because it is not covered by insurance, and structural anomalies without abnormalities in the copy number are also undetectable. In addition, although analyses using next-generation sequencers are becoming more widespread, this test is still performed in the laboratory. At present, various gene abnormalities are being identified in pediatric neurological disorders through the progress of gene-analysis technology. Therefore, our knowledge of the genetic diseases we analyze is increasing rapidly, and we frequently need to consult with genetic specialists. Unfortunately, since the types of examinations available in clinical settings are still somewhat restricted, we hope that the costs of a microarray analysis suitable for these types of genetic screening will soon be covered by insurance.

Key words : pediatrics, G-banding, FISH, Array CGH, DNA sequencers